ПАРАЗИТОЛОГИЯ, XIX, 1, 1985

УДК 576.895.77 : 591.461.3

УЛЬТРАТОНКОЕ СТРОЕНИЕ МАЛЬПИГИЕВЫХ СОСУДОВ ДВУКРЫЛЫХ-ГЕМАТОФАГОВ (DIPTERA)

С. Ю. Чайка

Изучена ультраструктура мальпигиевых сосудов 5 видов кровососущих двукрылых: мокреца *Culicoides pulicaris*, слепней *Tabanus bromius*, *Hybomitra schineri*, *Haematopota pluvialis* и мухи-жигалки *Stomoxys calcitrans*. В состав мальпигиевых сосудов всех исследованных видов входят клетки двух типов. Наиболее многочисленные клетки типа I содержат большое количество сферических включений, представляющих собой отложения минеральных соединений. В микроворсинках клеток типа I всегда содержатся митохондрии. Клетки типа II характеризуются меньшими размерами; в их микроворсинках отсутствуют митохондрии, а в цитоплазме не встречаются сфериты. Выявлены различия в ультраструктуре клеток эпителия разных отделов мальпигиевых сосудов.

Выделение продуктов азотного обмена, преимущественно в виде мочевой кислоты и ее солей, осуществляется насекомыми с помощью мальпигиевых сосудов. У двукрылых они представлены длинными трубками, впадающими в кишечник на границе между средней и задней кишкой. Пристальное внимание многих исследователей к мальпигиевым сосудам кровососущих двукрылых было связано главным образом с изучением гонотрофической ритмики последних. При изучении функционирования мальпигиевых сосудов комаров (Алмазова, 1939), москитов (Долматова, 1942), слепней (Попович, 1982) установлена связь функциональных изменений в мальпигиевых сосудах с определенной стадией гонотрофического цикла.

Несмотря на довольно хорошую изученность функциональных изменений мальпигиевых сосудов у ряда кровососущих двукрылых, сведения по морфологии и ультраструктуре этих выделительных органов весьма скудны. Из кровососущих двукрылых ультраструктура мальпигиевых сосудов изучена только у двух видов комаров: *Culex pipiens pallens* (Saguri a. o., 1969) и *Aedes aegypti* (Mathew, Rai, 1976). В связи с этим нами предпринято исследование в сравнительном плане тонкого строения мальпигиевых сосудов двукрылых-гематофагов, принадлежащих к трем подотрядам.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования служили самки мокрецов *Culicoides pulicaris* L. (подотряд Nematocera, сем. Ceratopogonidae), слепней *Tabanus bromius* L., *Hybomitra schineri* Lyneborg, *Haematopota pluvialis* L. (подотряд Brachycera-Orthorrhapha, сем. Tabanidae) и мухи-жигалки *Stomoxys calcitrans* L. (подотряд Brachycera-Cyclorrhapha, сем. Muscidae).

Для изучения ультраструктуры мальпигиевых сосудов их кусочки фиксировали в 2.5 %-ном растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере, а затем постфиксировали в 2 %-ном растворе четырехокиси осмия. Общее время фиксации составило 3 ч. В процессе обезвоживания в спиртах материал контрастировали в растворе уранилацетата в 70-градусном спирте в течение 16 ч. После обезвоживания материал заливали в смесь смол эпон. Ультратонкие срезы исследовали в электронном микроскопе JEM-100B.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Culicoides pulicaris L. Парные мальпигиевы сосуды мокреца имеют длину 4.0—4.5 мм, а диаметр 50—55 мкм. Дистальный отдел сосудов слегка расширен.

На всем протяжении эпителий мальпигиевых сосудов состоит из клеток двух типов, различающихся как своими размерами, так и ультраструктурой (рис. 1).

Наиболее многочисленными являются клетки типа I: высота этих клеток достигает 10 мкм. Клетки имеют полярное строение. Их апикальный отдел покрыт микроворсинками, длиной около 1 мкм. В каждой микроворсинке содержится одна митохондрия, которая отличается повышенной электронной плотностью (рис. 2. *1*; см. вкл.), В местах расположения митохондрий микроворсинки расширены и их диаметр достигает 0.5 мкм.

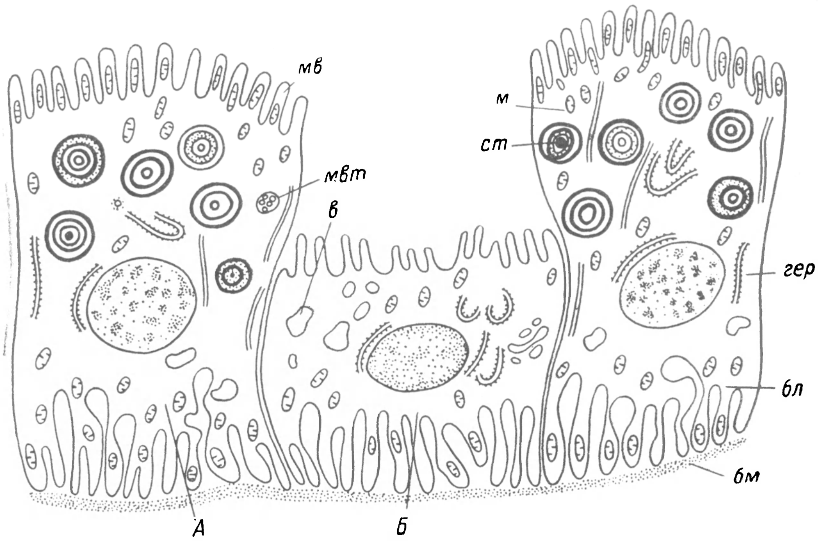

Рис. 1. Схема ультраструктуры клеток мальпигиева сосуда мокреца Culicoides pulicaris.

А — клетка типа I, *Б* — клетка типа II, *бл* — базальный лабиринт, *бм* — базальная мембрана, *в* — вакуоль, *гер* — гранулярный эндоплазматический ретикулум, *м* — митохондрии, *мв* — микроворсинки, *мвт* — мультивезикулярное тело, *ст* — сферическое тело.

В цитоплазме клеток типа I расположены разнообразные клеточные органеллы: митохондрии, микротрубочки, цистерны аппарата Гольджи, пузырьки, мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума. Наиболее характерной деталью строения клеток является наличие большого количества сферических включений, представляющих собой отложения разнообразных неорганических соединений (рис. 1; 2, *1*). Диаметр этих сферитов, называемых часто сферокристаллами, достигает 2.5 мкм. В некоторых клетках сфериты занимают значительный объем цитоплазмы.

В базальной части клеток типа I плазматическая мембрана глубоко впячивается в цитоплазму, разделяя последнюю на небольшие отсеки. Вдоль этих отсеков ориентированы длинные митохондрии. В цитоплазме базального отдела имеются также микротрубочки, мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума, небольшие вакуоли.

Клетки типа II мальпигиевых сосудов мокрецов весьма немногочисленны. Клетки отличаются небольшими размерами, их высота составляет всего около 4 мкм. В отличие от вышеописанных клеток, в цитоплазме клеток типа II не содержатся сфериты, а в микроворсинках отсутствуют митохондрии. Однако в клетках типа II хорошо развиты базальные инвагинации плазматической мембраны (рис. 1).

Снаружи мальпигиевы сосуды окружены гомогенной базальной мембраной, толщина которой составляет 0.17 мкм.

Tabanus bromius L. Выделительные органы слепня *T. bromius* представлены четырьмя мальпигиевыми сосудами. Длина мальпигиевых сосудов достигает 2.5 см, а диаметр равен 120—130 мкм.

На всем своем протяжении мальпигиевы сосуды построены из больших эпителиальных клеток, хорошо видимых на тотальных препаратах. В связи с тем что мальпигиевы сосуды слепней не подразделены на отчетливо выраженные морфологические зоны, нами исследовалась ультраструктура сосудов в их дистальном, центральном и проксимальном отделах.

Клетки дистального и центрального отделов мальпигиевого сосуда имеют все характерные признаки, свойственные клеткам всасывающего эпителия. Апикальный отдел клеток несет микроворсинки, длина которых достигает 2.5 мкм. Диаметр микроворсинок варьирует от 0.08 до 0.25 мкм. В составе микроворсинок обнаруживаются удлиненные митохондрии и тонкие микрофиламенты. Значительное количество митохондрий расположено также непосредственно под микроворсинками в апикальной зоне клеток (рис. 2, *2*).

Цитоплазма клеток характеризуется высокой электронной плотностью и богатством цитоплазматических органелл. Всю цитоплазму пронизывают микротрубочки. Богато представлены мембраны гранулярной эндоплазматической сети, рибосомы, пузырьки. Повсеместно в цитоплазме встречаются округлые вакуоли, диаметром около 0.5 мкм (рис. 2, *2*). Эти вакуоли безусловно являются предшественниками сферитов и заполняются разнообразными соединениями, подлежащими выведению. Однако в клетках дистального отдела сосудов вакуоли еще полностью не сформированы. Довольно часто в цитоплазме встречаются мультивезикулярные тела, диаметром около 0.4 мкм.

В проксимальном отделе мальпигиевых сосудов в составе эпителия обнаружены клетки типов I и II. Клетки типа I по ряду признаков сходны с клетками центрального отдела. Наиболее характерной чертой строения апикальной области клеток типа I является наличие в микроворсинках отложений, напоминающих по внешнему виду и размерам гранулы гликогена. В местах локализации этих гранул микроворсинки сильно расширены и их диаметр достигает 0.5 мкм (рис. 2, *3*).

Цитоплазма клеток типа I изобилует сферитами, состоящими из дисков разной электронной плотности. Ряд сферитов находится на стадии формирования; при этом в одной вакуоле наряду с отдельными сформированными слоями отложений расположены небольшие пузырьки и плотные включения.

Клетки типа II характеризуются меньшими размерами, более редким расположением микроворсинок, отсутствием в микроворсинках митохондрий, незначительным количеством цитоплазматических органоидов. В клетках типа II отсутствуют какие-либо сферические включения неорганических веществ. Однако эти клетки имеют хорошо развитую систему базальных инвагинаций. Мальпигиевы сосуды *T. bromius* окружены довольно массивной базальной оболочкой, толщина которой равна 1 мкм.

Hybomitra schineri Lyneborg. Эпителий мальпигиевых сосудов *H. schineri* также состоит из клеток двух типов. На срезах, сделанных через разные зоны мальпигиевых сосудов, отчетливо видно, что подавляющее большинство клеток относится к клеткам типа I (рис. 2, *4*). Длина микроворсинок клеток типа I увеличивается от дистального отдела (2.5 мкм) к проксимальному (до 5 мкм). В цитоплазме клеток обнаруживаются сфериты, а также разнообразные цитоплазматические органеллы: мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосомы, митохондрии, лизосомоподобные тела. Преобладающее большинство сферитов расположено в апикальной и центральной зонах клетки и лишь отдельные сфериты могут встречаться в базальной зоне, в области базального лабиринта. В микроворсинках всех клеток типа I содержатся митохондрии (рис. 2, *4*). Некоторые микроворсинки имеют расширенные вершины.

Клетки типа II обладают сравнительно небольшими микроворсинками, длиной до 2 мкм, располагающимися на поверхности клетки неравномерно. В микроворсинках отсутствуют митохондрии. Значительный объем клеток занимает ядро, имеющее, как правило, удлиненную форму. В цитоплазме клеток нет каких-либо видимых секреторных включений, однако имеются основные органоиды, участвующие в секреции: гранулярный эндоплазматический ретикулум, рибосомы, аппарат Гольджи. Базальный отдел клеток преобразован в лабиринтообразную систему инвагинаций.

Haematopota pluvialis L. Диаметр мальпигиевых сосудов равен 130—160 мкм, а длина — около 2 см. Эпителий сосудов состоит в основном из клеток типа I, среди которых только изредка встречаются клетки типа II.

По основным признакам ультраструктурной организации клетки обоих типов подобны таковым *Tabanus bromius* и *Hybomitra schineri*. Клетки типа I глубоко вдаются в полость мальпигиевого сосуда. Они имеют электронноплотную цитоплазму, заполненную разнообразными органеллами. На всем протяжении мальпигиевы сосуды содержат сферические включения. Микроворсинки клеток типа I имеют удлиненные митохондрии. В ряде клеток вершины микроворсинок значительно расширены.

Высота клеток типа II не превышает 7 мкм. Эти клетки обладают электроннопрозрачной цитоплазмой и не содержат сферитов. В микроворсинках отсутствуют митохондрии. В цитоплазме клеток типа II имеются мембраны гранулярной эндоплазматической сети, рибосомы, микротрубочки (рис. 3, *1*; см. вкл.). Базальная часть клеток имеет вид лабиринта, образованного за счет инвагинаций плазматической мембраны внутрь клеток.

Stomoxys calcitrans L. Мальпигиевы сосуды осенней жигалки представлены четырьмя трубчатыми образованиями, попарно сливающимися перед впадением в кишечник. Длина мальпигиевых сосудов достигает 15 мм, а их диаметр равен 60—90 мкм. По внешнему виду мальпигиевы сосуды подразделены на три отдела: дистальный, основной и проксимальный, или мочеточник.

Расширенный дистальный отдел мальпигиевого сосуда у напитавшихся кровью жигалок имеет длину около 1.5 мм, а диаметр его равен 150 мкм. В период переваривания крови мальпигиевы сосуды имеют желтую окраску. Через сутки после кровососания диаметр дистального отдела увеличивается до 350 мкм. Цвет сосудов становится молочно-белым.

Эпителий дистального отдела мальпигиевых сосудов состоит из однородных клеток, апикальная поверхность которых покрыта микроворсинками (рис. 3, *2*). Последние имеют длину 2.0—2.5 мкм, а их диаметр равен 0.25 мкм. Во всех микроворсинках содержатся митохондрии (рис. 3, *3*). Помимо митохондрий в микроворсинках обнаруживаются и микротрубочки, проходящие к вершине микроворсинок. Значительное число микроворсинок заканчивается булавовидным расширением.

Характерной чертой строения клеток дистального отдела мальпигиевых сосудов является наличие большого количества мембраноограниченных сферитов. Кроме округлых сферитов в цитоплазме клеток имеются кристаллоподобные включения, отличающиеся высокой электронной плотностью. Последние имеют форму разнообразных многогранников, их диаметр равен 0.2—0.5 мкм.

В центральной части клеток расположено ядро и основная масса цитоплазматических органелл. Из резервных питательных веществ в этой области обнаруживаются гранулы гликогена.

В базальной части клеток цитоплазматическая мембрана глубоко впячивается в клетку, формируя узкие клеточные отсеки, которые напоминают микроворсинки. В цитоплазматических отсеках расположены митохондрии и микротрубочки. Поперечник наиболее тонких тяжей равен 0.05 мкм. Эти тонкие тяжи вплотную подходят к базальной оболочке. Следует особо отметить, что в клетках дистального отдела базальный лабиринт достигает наибольшего развития. В отдельных клетках впячивания плазматической мембраны простираются почти до их апикальной области.

Эпителий основного отдела мальпигиевых сосудов включает клетки типов I и II. Клетки типа I имеют высоту 15—20 мкм и характеризуются полярным строением. Апикальный отдел клеток покрыт микроворсинками, а базальный отдел представлен системой цитоплазматических тяжей. Микроворсинки имеют длину 2.5—3.0 мкм и содержат митохондрии. Значительное количество митохондрий расположено также под микроворсинками, в апикальной части клеток. Повсеместно в цитоплазме клеток типа I встречаются сфериты. Последние могут иметь как гомогенное строение, так и включать несколько концентрических слоев разной электронной плотности. Диаметр таких сферитов равен 0.5—0.9 мкм.

Цитоплазматические инвагинации в области базального лабиринта занимают около половины высоты клетки. Кроме митохондрий в этой области имеется большое количество округлых вакуолей, часто заполненных мелкодиспергированным содержимым средней электронной плотности. По соседству с такими включениями расположены и более электронноплотные сфериты. По-видимому, все эти округлые образования представляют собой разные стадии формирования конкреций сферитов.

В цитоплазме клеток рассеяны гомогенные включения округлой формы, характеризующиеся очень высокой электронной плотностью. Эти включения имеют диаметр до 0.35 мкм. Обычно сходные включения рассматриваются как скопления первичной мочи.

Высота клеток типа II равна 4—7 мкм. Как и в сходных клетках мальпигиевых сосудов мокрецов и слепней, в микроворсинках клеток эпителия жигалки не содержатся митохондрии, а в цитоплазме клеток нет сферических включений. Базальный лабиринт занимает около половины клетки. В его разнообразных по форме цитоплазматических инвагинациях имеются митохондрии, рибосомы, элементы гранулярной сети. Клетки типа II немногочисленны. Обычно на поперечном срезе обнаруживается лишь одна клетка, однако на некоторых срезах эти клетки и вовсе отсутствуют.

Проксимальный отдел, или мочеточник, мальпигиевых сосудов жигалки образован сравнительно невысокими (до 8 мкм) клетками (рис. 3, *4*). Наиболее характерной деталью строения эпителия мочеточника является довольно интенсивное разделение цитоплазмы клеток на отсеки с помощью инвагинаций базальной мембраны. Вся цитоплазма клеток заполнена большими митохондриями, однако наибольшая концентрация их наблюдается в апикальной и базальной областях клетки. Микроворсинки имеют длину 1.5 мкм, а их диаметр равен 0.1 мкм.

Базальная оболочка, покрывающая проксимальный отдел мальпигиевых сосудов жигалки, имеет толщину 0.7 мкм. Под базальной оболочкой лежат толстые пучки мышц.

ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании тонкого строения мальпигиевых сосудов двукрылых-гематофагов, занимающих разное положение в системе отряда, выявлены как общие признаки их строения, так и существенные различия. Мальпигиевы сосуды мокрецов и слепней на всем своем протяжении выглядят сравнительно однородными и, за исключением несколько расширенной дистальной части, не дифференцированы на отделы. Напротив, у жигалки *Stomoxys calcitrans* мальпигиевы сосуды перед впадением в кишечник срастаются в общий проток. Попарное слияние мальпигиевых сосудов характерно для высших двукрылых, имеющих самую разнообразную трофическую специализацию.

Анализ ультраструктуры мальпигиевых сосудов двукрылых-гематофагов показал, что в состав их эпителия входят клетки двух типов. Наиболее многочисленным клеткам типа I свойственна полярность строения, наличие в их микроворсинках митохондрий и большое количество сферитов в цитоплазме.

Клетки типа I характеризуются меньшими размерами и отсутствием митохондрий в микроворсинках. Эти клетки можно отнести к мукоидному типу, описанному у ряда насекомых (Taylor, 1971; Mathew, Rai, 1976). Предполагается, что мукополисахариды, выделяемые этими клетками в просвет мальпигиевого сосуда, способствуют преципитации и кристаллизации мочевой кислоты и ее солей (Marshall, 1966; Taylor, 1971).

Сравнение тонкого строения эпителия по ходу мальпигиевого сосуда указывает на имеющуюся функциональную дифференцировку клеток типа I. Поскольку в дистальном отделе мальпигиевых сосудов преобладают процессы всасывания жидкости и веществ из полости тела насекомого, клетки этого отдела имеют хорошо развитые инвагинации в области базального лабиринта и сравнительно короткие микроворсинки. В основном и проксимальном отделах мальпигиевых сосудов наблюдается увеличение длины микроворсинок и количества экскреторных гранул в цитоплазме клеток. Это связано с частичной реабсорбцией воды и ионов из полости мальпигиевых сосудов, свойственной большинству наземных членистоногих.

Известно, что процессы осморегуляции и экскреции протекают с большой затратой энергии. Поэтому в местах, где осуществляются обменные процессы, наблюдается значительное скопление митохондрий. Такими местами в мальпигиевых сосудах являются прежде всего апикальная и базальная области клеток. Кроме того, как показано и в нашем исследовании, митохондрии обнаруживаются даже в микроворсинках клеток.

Однако такое строение мальпигиевых сосудов свойственно не всем насекомым, даже со сходной трофической специализацией. Так, в микроворсинках клеток мальпигиевых сосудов блох митохондрии отсутствуют (Чайка, 1983). Нам не удалось обнаружить их и у *Pediculus humanus corporis*. По-видимому, характер распределения этих органелл в клетках мальпигиевых сосудов связан как с филогенетическим положением конкретных групп насекомых, так и с особенностями их трофики и выделения. С периодичностью питания свободноживущих кровососов связана и периодичность активного функционирования их мальгипиевых сосудов. Вполне вероятно, что локализация митохондрий в апикальной и базальной областях клеток мальпигиевых сосудов способствует более быстрому осуществлению процессов всасывания и выделения жидкости и мочевой кислоты свободноживущими, периодически нападающими на добычу двукрылыми-гематофагами.

Литература

Алмазова В. В. Функционирование мальпигиевых сосудов Anopheles maculipennis на разных отрезках жизненного цикла. — В кн.: Вопросы физиологии и экологии малярийного комара. М., 1939, вып. 1, с. 53—64.

Долматова А. В. Жизненный цикл Phlebotomus papatasii (Scopoli). — Мед. паразитол. и паразитарные болезни, 1942, т. 11, № 3, с. 52—70.

Попович А. П. К изучению функционирования мальпигиевых сосудов у самок слепней в процессе гонотрофического цикла. — Вестн. зоол., 1982, № 2, с. 75—78.

Чайка С. Ю. Электронно-микроскопическое исследование мальпигиевых сосудов блох (Siphonaptera). — Паразитология, 1983, т. 17, вып. 2, с. 149—155.

Marshall A. T. Histochemical studies on muco-complex in the malpighian tubules of cecropid larvae. — J. Insect Physiol., 1966, vol. 12, p. 925—932.

Mathew G., Rai K. S. Fine structure of the malpighian tubule in Aedes aegypti. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1976, vol. 69, N 4, p. 659—661.

Saguri S., Tongu Y., Itano K., Sakamota D., Inatomi S. The ultrastructure of mosquitoes. II. Malpighian tubule of Culex pipiens pallens. — Jap. J. Sanit. Zool., 1969, vol. 20, N 1, p. 1—6.

Taylor H. H. The fine structure of the type 2 cells in the malpighian tubules of the stick insect, Carausius morosus. — Z. Zellforsch., 1971, vol. 122, N 4, p. 411—424.

МГУ Поступило 24 VI 1983

ULTRAFINE STRUCTURE OF MALPIGHIAN TUBES OF DIPTERA — HAEMATOPHAGES (DIPTERA)

S. Yu. Chaika

SUMMARY

The ultrastructure of Malpighian tubes of 5 species of bloodsucking Diptera was studied: *Culicoides pulicaris*, *Tabanus bromius*, *Hybomitra schineri*, *Haematopota pluvialis* and *Stomoxys calcitrans*. The Malpighian tubes of the above species include the cells of two types. The most abundant cells of the 1st type contain many spherical inclusions which represent deposits of mineral compounds. The microvilli of the 1st type cells always contain mitochondria. Cells of the 2nd type are characterized by a smaller size, their microvilli lack mitochondria and no sphere crystals are observed in cytoplasm. Differences in the ultrastructure of epithelial cells of Malpighian tubes were found out.

Вклейка к ст. С. Ю. Чайка

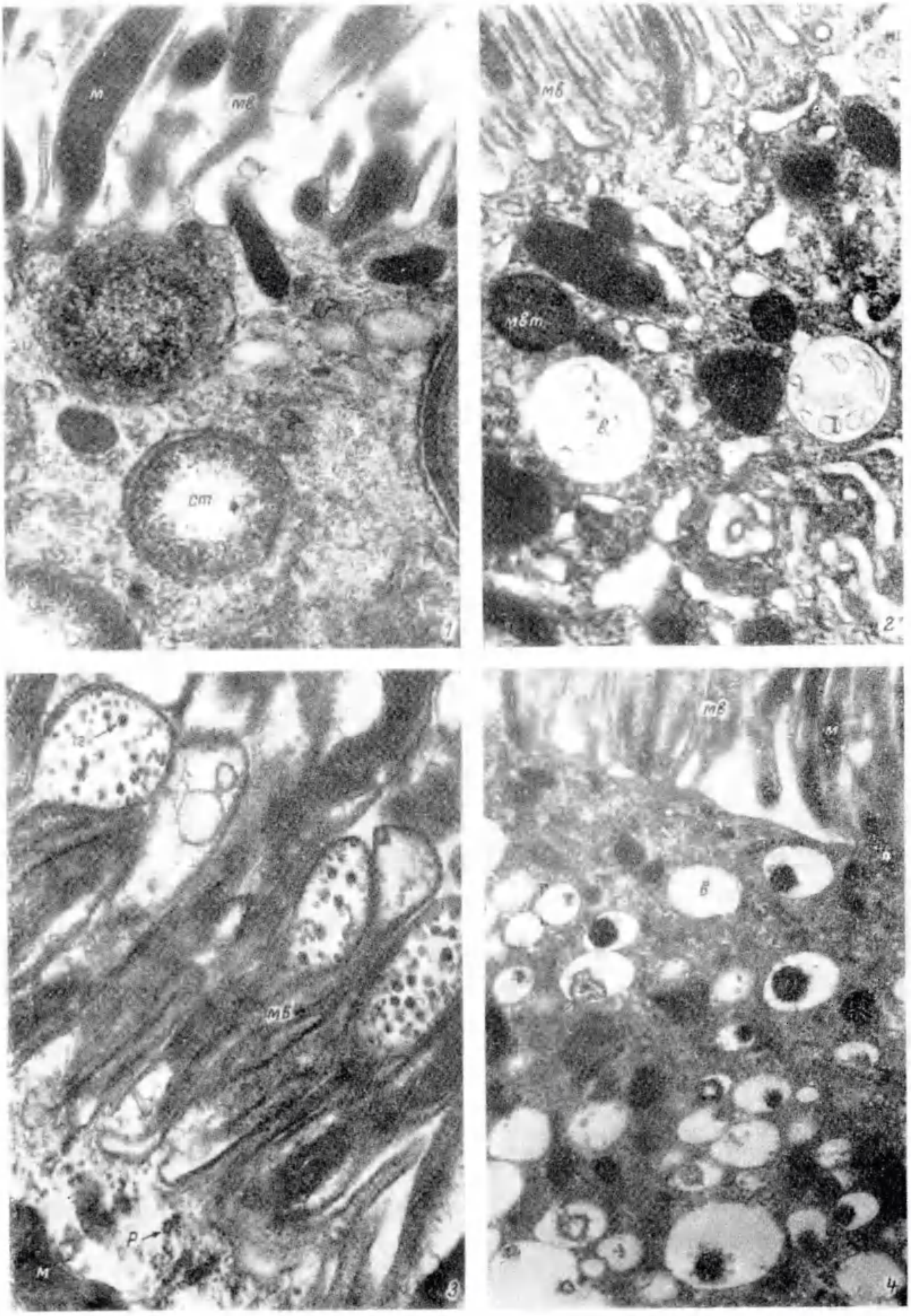

Рис. 2. Ультраструктура мальпигиевых сосудов мокреца *Culicoides pulicaris*, слепней *Tabanus bromius* и *Hybomitra schineri*.

1 — клетка центрального отдела сосуда, *C. pulicaris*, *2* — клетка дистального отдела сосуда *T. bromius*, *3* — клетка проксимального отдела сосуда *T. bromius*, *4* — клетка типа I проксимального отдела сосуда *H. schineri*. Увел.: *1* — 15000×, *2* — 20 000×, *3* — 25 000×, *4* — 10 000×. *г* — гликоген, *р* — рибосомы.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

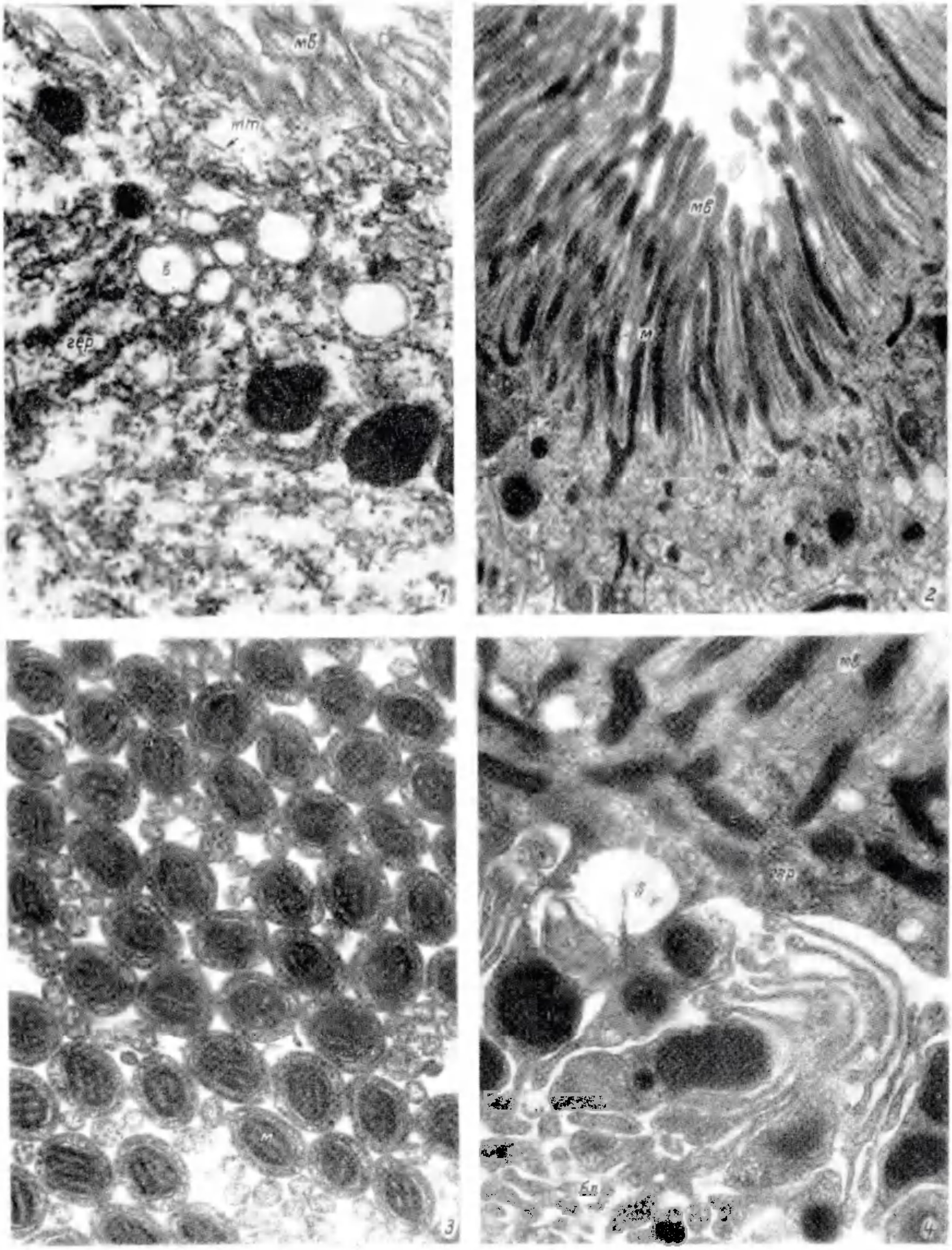

Рис. 3. Ультраструктура мальпигиевых сосудов слепня *Haematopota pluvialis* и осенней жигалки *Stomoxys calcitrans*.

1 — клетка типа II *H. pluvialis*, *2* — дистальный отдел сосуда *S. calcitrans*, *3* — поперечный срез через микроворсинки сосуда *S. calcitrans*, *4* — клетки типа I проксимального отдела *S. calcitrans*. Увел.: *1* — 25 000×, *2* — 8 000×, *3* — 40 000×, *4* — 20 000×; *мт* — микротрубочки.
Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.